

**Über pH und Redoxpotential
in gelagertem
menschlichen Lebergewebe**

von

Abdulatif Ismail

aus Deir-El-Zor / Syrien

1970

1971 # 13

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität
Erlangen - Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Über pH und Redoxpotential
in gelagertem menschlichen Lebergewebe

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Abdulatif Ismail
aus
Deir-El-Zor / Syrien

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Schiefer
Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig
Koreferent: Prof. Dr. E. Schreck

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.1970

Inhaltsverzeichnis

	Seite
<u>Problemstellung</u>	5
1. <u>Wasserstoffionenkonzentration</u>	6
1.1 Allgemeines	6
1.2 Die konventionelle pH-Skala	7
1.3 Die Glaselektrode	7
2. <u>Redoxvorgänge</u>	9
2.1 Allgemeines	9
2.2 Das Redox-Potential	9
2.3 Der Nernst'sche Potentialfaktor	11
2.4 Beziehung zwischen Redoxpotential und pH	12
2.5 Mischung von Redoxsystemen	13
2.6 Beschwerung	14
2.7 Nichtreversible Redoxvorgänge	14
2.8 rH-Wert	15
3. <u>Literatur über die Bestimmung von pH- und Redoxpotential an tierischem und menschlichem Gewebe</u>	17
4. <u>Meßverfahren</u>	26
4.1 Elektroden	26
4.2 Spannungsmessung	28
4.3 Polarisierung der Elektroden	29
4.4 Meßanordnung	30

	Seite
4.5 Technische Durchführung	31
4.5.1 Elektronik	31
4.5.2 Elektrische Abschirmung	34
4.5.3 Gasatmosphäre im Meßraum	34
4.5.4 Vorbereitung des Gewebes	35
5. <u>Meßergebnisse</u>	37
6. <u>Diskussion</u>	43
7. <u>Zusammenfassung</u>	46
8. <u>Literaturverzeichnis</u>	47

Problemstellung

Der forensische Toxikologe wird häufig vor das Problem gestellt, auch bei länger zurückliegenden Todesfällen entscheiden zu müssen, ob Gifteinwirkung beim Todes-
eintritt eine Rolle gespielt hat.

Zur Beantwortung dieser Frage ist es wichtig zu wissen, welchen Einflüssen ein Gift unterworfen gewesen sein kann, nach dem gesucht werden soll. Insbesondere bei organischen Giften hängt der Ab- und Umbau der Moleküle von den Umweltbedingungen, besonders vom pH und Redoxpotential, ab.

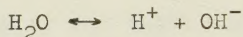
In vorliegender Arbeit soll untersucht werden, welche pH-Werte und welche Redoxpotentiale in Geweben auftreten, die längere Zeit bei Kühlschranktemperatur gelagert worden sind, und welche Potentialänderungen durch Öffnen der Aufbewahrungsgefäße erfolgen können.

Zuerst soll allgemein die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration und des Redoxpotentials und ihr Zusammenhang beschrieben werden, dann werden die in der Literatur bekannten Meßergebnisse anderer Autoren dargestellt, weiter werden die für die praktische Durchführung der Messung erforderlichen Voraussetzungen und der Aufbau der Meßapparatur besprochen, schließlich eigene Meßergebnisse mitgeteilt und diskutiert.

1. Wasserstoffionenkonzentration

1.1 Allgemeines

Für alle in wässrigen Lösungen ablaufenden Reaktionen ist das Dissoziationsgleichgewicht des Wassers



von großer Bedeutung. In wässrigen Lösungen hängen die Aktivitäten der Konzentrationen von H^+ und OH^- über das Massenwirkungsgesetz zusammen; für große Verdünnungen sind die Aktivitäten etwa gleich den Konzentrationen.

Bei 25°C gilt etwa

$$c_{\text{H}^+} \cdot c_{\text{OH}^-} = 10^{-14}.$$

Substanzen, in deren wässriger Lösung die Wasserstoffionen-Konzentration größer als 10^{-7} mol/l ist, werden als Säuren bezeichnet; Stoffe, deren wässrige Lösung eine Wasserstoffionen-Konzentration kleiner als 10^{-7} mol/l hat, nennt man Basen oder Laugen.

pH ist ein Maß für die Aktivität bzw. Konzentration der Wasserstoffionen; es ist definiert als der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffionenaktivität bzw. Wasserstoffionenkonzentration.

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

Einem Vorschlag von SØRENSEN (1909) folgend wird das pH als Maß für die Azidität einer wässrigen Lösung verwendet.

Wegen der Schwierigkeit bei der Bestimmung der Aktivitäten wird für die praktische pH-Messung eine konventionelle pH-Skala verwendet, die durch ein elektrochemisches Meßverfahren wie folgt definiert ist:

1.2 Die konventionelle pH-Skala

Die konventionelle pH-Skala ist festgelegt durch eine Reihe von Pufferlösungen, deren pH-Wert möglichst exakt ermittelt wurde.

Der pH-Wert einer zu untersuchenden Lösung wird mit dem pH-Wert dieser Pufferlösung verglichen und dadurch bestimmt.

1.3 Die Glaselektrode

Für die praktische pH-Messung werden im vorliegenden Fall Glaselektroden verwendet.

Die Glaselektrode ist ein geschlossenes Glasgefäß, von dem ein Teil aus einer Membran aus einem Spezialglas besteht, auf der sich das pH-abhängige Potential einstellt. Im Inneren der Glaselektrode befindet sich eine Pufferlösung mit vorgegebenem pH-Wert. In diese Pufferlösung taucht als Ableitelektrode ein Platin-draht ein.

Die Gleichgewichtszellspannung der Meßkette ändert sich bei dünnwandigen Elektroden und unter bestimmten Voraussetzungen um 59 mV pro pH, bei nicht "idealen" Elektroden auch um einen abweichenden Wert, der als Steilheit bezeichnet wird.

Die Steilheit wird mit Hilfe von Pufferlösungen mit bekannten pH-Werten experimentell bestimmt. Wegen Alterungserscheinungen der Elektrode muß die Eichung von Zeit zu Zeit wiederholt werden.

Ein Nachteil der Glaselektroden ist der hohe Widerstand der Glasmembran (einige Megaohm), der einen hohen Innenwiderstand des Meßinstrumentes erfordert.

Bei Glaselektroden kann ein sogenannter Benetzungsfehler auftreten. Dieser tritt in Erscheinung, wenn der elektrische Widerstand des Elektrodenschafes nicht sehr viel größer als der Widerstand der Meßmembran ist, oder wenn die Membran nur teilweise eintaucht. Es tritt dann ein elektrischer Nebenschluß auf bzw. der Meßwert wird verfälscht, weil der Benetzungsfilm einen anderen pH-Wert als die Lösung hat. Man muß daher darauf achten, daß die gesamte Membran mit der Meßlösung Kontakt hat, was besonders wichtig bei Messung in Geweben ist (BERNDT).

Der große Vorteil der Glaselektrode ist, daß man sie in allen Elektrolyten verwenden kann, da weder Redoxsysteme noch sogenannte Kontaktgifte stören. Außerdem beeinflußt die eingetauchte Elektrode praktisch die untersuchte Lösung nicht.

2. Die Redox-Vorgänge

2.1 Allgemeines

Unter Oxydation versteht man heute keineswegs nur mehr den Umsatz eines Stoffes mit Sauerstoff, sondern Elektronenentzug. Eine Reduktion stellt Elektronenzufuhr dar.

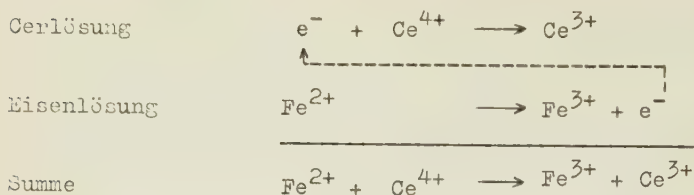
Als Beispiel eines Redox-Systems sei das System Hydrochinon-Chinon angegeben. In eine wässrige Hydrochinon-Lösung sollen zwei Platinelektroden eintauchen, nach Anlegen einer Betriebsspannung von 0,8 Volt zwischen den beiden Platinelektroden wird an der Anode Hydrochinon oxydiert, an der Kathode die äquivalente Menge Wasserstoffionen aus dem Wasser reduziert.

2.2 Das Redox-Potential

In einem Gefäß befinde sich eine Ce^{4+} -Lösung, in einem anderen eine Fe^{2+} -Lösung in äquivalenter Menge. In jedes Gefäß tauche eine chemisch resistente Metallelektrode (z.B. Platinelektrode) ein, die Elektroden seien außen über ein Strommeßgerät leitend verbunden, die beiden Gefäße über eine Brücke mit gesättigter Kalium-Chlorid-Lösung.

Das Strommeßgerät zeigt einen Strom an; die Richtung des Elektronenflusses verläuft von der Eisen- zur Cerlösung; die Platinelektrode in der Cerlösung stellt also den positiven Pol des Elementes dar.

In den Gefäßen spielen sich folgende Vorgänge ab:



Der Vorgang der Elektronenübertragung bei Redoxprozessen kann also auch wie im Beispiel, über einen äußeren Leiter stattfinden.

Eine elektrische Potentialdifferenz, wie sie zwischen den beiden Gefäßen auftritt, nennen wir ganz allgemein Redoxpotential. Aus dem Beispiel geht hervor, daß das positivere System (Cer) das negativere (Eisen) oxydieren kann.

Die Ausbildung einer elektrisch meßbaren Potentialdifferenz zwischen zwei Redox-Systemen kann man nach CLARK und COHEN (1923) auf eine verschieden starke Lösungstension beweglicher Elektronen in jedem der beiden Systeme zurückführen.

Aus Gründen der Praxis wurde, einem Vorschlag von NERST folgend, die Wasserstoffelektrode als Bezugssystem gewählt. Die Potentialdifferenz eines Systems gegen die Standardwasserstoffelektrode (E) errechnet sich aus dem Vergleich der osmotischen und elektrischen Arbeit zu

$$E = E_m + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Ox]}{[Red]}$$

In dieser sogenannten Peters'schen Gleichung bedeuten

Ox die Konzentration der oxydierten, Red die Konzentration der reduzierten Form des fraglichen Systems. Die Zahl n gibt die pro Elementarvorgang umgesetzten Elektronen (die Wertigkeit des Redoxprozesses) an, F, R und T sind thermodynamische Größen (F = 96500 Coulomb, R = Gaskonstante und T = absolute Temperatur).

Zur praktischen Ausführung der Messung verwendet man heute Edelmetallelektroden und Bezugsselektroden mit konstantem Eigenpotential, wie die Kalomelelektrode. Die Meßergebnisse müssen auf die Wasserstoffelektrode umgerechnet werden.

Die Gleichungen beziehen sich wie beim pH grundsätzlich nicht auf Konzentrationen sondern auf sogenannte Aktivitäten, die man auch als wirksame Konzentrationen bezeichnen kann. Im allgemeinen ist bei Konzentrationen unter 0,001 - molar der Zahlenwert von Aktivität und Konzentration gleich.

2.3 Der Nernst'sche Potentialfaktor

Für praktische Berechnungen ist die Verwendung dekadischer Logarithmen in der Peters'schen Gleichung günstiger, die hiermit lautet:

$$\begin{aligned} E &= E_m + \frac{2,3026 RT}{nF} \log \frac{[Ox]}{[Red]} \\ &= E_m - \frac{E_n}{n} \log \frac{[Ox]}{[Red]} \end{aligned}$$

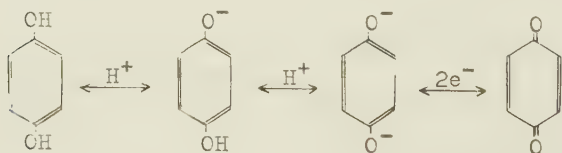
Der Ausdruck $2,3026 RT / F$ wird als Nernst'scher Potentialfaktor E_N bezeichnet. Er hängt von der Temperatur ab, seine Werte sind aus Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Wert des Nernst'schen Potentialfaktors bei verschiedenen Temperaturen

Temperatur in °C	0	10	20	30
E_N (Volt)	0,0542	0,0562	0,0582	0,0601

2.4 Beziehung zwischen Redox-Potential und pH

Bei vielen Redoxsystemen läuft der Redoxvorgang des Elektronenaustausches unter Mitwirkung von Wasserstoffionen ab. Als Beispiel sei wieder das Hydrochinon verwendet.



Redox-Übergang

Beim Hydrochinon liegt die reduzierte Form in drei Formen vor, die oxydierte Form nur in einer. Der reine Redoxprozess spielt sich nur zwischen der dritten reduzierten Stufe und der oxydierten Form ab, er gehorcht der Peters'schen Gleichung. Die Gesamtkonzentration der reduzierten Form ist gleich der Summe der Einzelkonzentrationen der einzelnen reduzierten Stufen. Der Übergang zwischen den drei reduzierten Stufen gehorcht dem Massenwirkungsgesetz. Für das System Chinon-Hydrochinon errechnet sich z.B. für pH 8 das normale Redoxpotential zu:

$$\begin{aligned} E &= E_O + \frac{E_N}{2} \log [H^+]^2 \\ &= E_O - E_N \cdot \text{pH} \quad (\text{für } \text{pH} \leq 8). \end{aligned}$$

Die mathematisch erhaltene Abhängigkeit vom pH entspricht den praktisch gefundenen Meßwerten.

2.5 Mischung von Redoxsystemen

Bei Mischung zweier verschiedener reversiblen Redoxsysteme stellt sich ein Potential zwischen den beiden Systemen ein. Je weiter die Normalpotentiale der beiden beteiligten Partner auseinander liegen, desto einseitiger ist meist das Potential in die Richtung eines Systems verschoben, nur wenn beide Normalpotentiale nahe beieinander liegen stellt sich auch, je nach Mischung, im Bereich zwischen beiden Potentialen eine experimentell meßbare Gleichgewichtslage ein.

2.6 Beschwerung

Entsprechend der Pufferkapazität bei einem Säurebasenpuffersystem spricht man bei einem Redoxsystem von der Beschwerung. Bei einem reversiblen Redoxsystem ist die Beschwerung beim Redoxnormalpotential am größten, d.h. wenn oxydierte und reduzierte Phase gleiche Konzentration haben. Die Beschwerung steigt mit der Gesamtkonzentration der Redoxpartner.

2.7 Nichtreversible Redoxvorgänge

Es hat sich eingebürgert, solche Redoxsysteme als reversibel zu bezeichnen, bei denen sowohl die oxydierte als auch die reduzierte Form in ungehindertem Elektronenaustausch mit der Metallelektrode stehen, dieser Metallelektrode also ein definiertes Potential erteilen.

Manche Systeme scheinen nicht die ihnen nach ihrem Normalpotential zukommende Oxydation- oder Reduktionskraft zu besitzen; das kann daher kommen, daß sogenannte gehemmte Systeme beteiligt sind (z.B. H^+/H_2 oder O_2/OH^-). In solchen Systemen ist der Elektronenaustausch mit der Elektrode zumindest bei einer der beiden Formen gehemmt und kann nur in Verbindung mit Redoxindikatoren, Enzymen oder auch gar nicht erreicht werden; man spricht in solchen Fällen von halb reversiblen oder irreversiblen Redoxsystemen.

Dieser Ausdruck reversibel hat mit der thermodynamischen Reversibilität nichts zu tun. Es gibt sogenannte

irreversible Redoxsysteme, die über Vermittlersysteme mit anderen Redoxsystemen zu definierten Gleichgewichtslagen reagieren, sich also thermodynamisch gesehen reversibel verhalten. Um Unklarheiten zu vermeiden, kann man auch die thermodynamisch reversiblen, aber elektrochemisch irreversiblen Systeme als gehemmt bezeichnen. (HEIMANN und WISSER.)

Gehemmte Systeme seien am Beispiel des Fumarat-Succinat-Systems erklärt: Dieses System ist wegen fehlender Elektronenübergänge an der Metallelektrode elektrochemisch inaktiv (irreversibel), es erteilt der Elektrode kein definiertes Potential. Setzt man jedoch Methylenblau und einen Biokathalysator zu, so stellt sich an der Metallelektrode ein definiertes Potential ein. Das Redoxsystem Methylenblau/Leukomethylenblau prägt der Elektrode ihr Potential auf und tritt andererseits mit dem zu prüfenden System Fumarat-Succinat in's Gleichgewicht. Bei Kenntnis der Konzentrationen der einzelnen Reaktionspartner läßt sich aus dem gemessenen Potential das Normalredoxpotential des Fumarat/Succinat-Systems berechnen.

2.8 rH-Wert

Mit dem rH-Wert sollte ursprünglich ein pH-unabhängiges Maß für das Redoxpotential geschaffen werden (CLARK). Experimentell wurde festgestellt, daß das Potential der Wasserstoffelektrode und viele andere Redoxsysteme (z.B. Chinon-Hydrochinon) einen linearen Gang mit dem pH von ungefähr 60 mV je pH Einheit aufweist.

An der Wasserstoffelektrode spielt sich folgender Vorgang ab: $\text{H}_2 = 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^-$. Für die Abhängigkeit des Potentials der Wasserstoffelektrode vom Druck des umgebenden Wasserstoffs (p_{H_2}) und von der H^+ -Ionenkonzentration gilt

$$\begin{aligned} E &= + \frac{E_N}{2} \log \left[\frac{\text{H}^+}{p_{\text{H}_2}} \right]^2 = + \frac{E_N}{2} \log [\text{H}^+]^2 - \frac{E_N}{2} \log p_{\text{H}_2} \\ &= - E_N \cdot \text{pH} - \frac{E_N}{2} \log p_{\text{H}_2} \end{aligned}$$

In formaler Analogie zur Definition des pH ($\text{pH} = - \log [\text{H}^+]$) wird definiert

$$\text{rH} = - \log p_{\text{H}_2}.$$

Das bedeutet: der rH-Wert eines Redoxsystems ist der negative Logarithmus des Wasserstoffdrucks, unter welchem eine in die Meßlösung tauchende Edelmetall-Elektrode das gleiche Redoxpotential hätte wie die Normalwasserstoffelektrode.

Die rH-Skala wird für wässrige Lösungen durch die Potentiale der Sauerstoffelektrode und Wasserstoffelektrode begrenzt (Potential-Differenz 1,23 V); von den Gebieten der Wasserstoff- und Sauerstoffüberspannung sei hier abgesehen. In diesem Bereich liegen die rH-Werte zwischen 0 (Wasserstoffelektrode mit Wasserstoffdruck von einer Atmosphäre) und 42 (Sauerstoffelektrode mit Sauerstoffdruck von einer Atmosphäre bzw. Wasserstoffdruck von 10^{-42} Atmosphären).

Der Redoxneutralpunkt - formal vergleichbar mit dem Neutralpunkt der pH-Skala - läge etwa bei rH 21.

Der rH-Wert ist nur begrenzt verwendbar, u.a. weil nicht alle Redoxsysteme im alkalischen und sauren eine gleiche pH-Abhängigkeit des Redoxpotentials haben wie die Wasserstoffelektrode.

3. Literatur über die Bestimmung von pH- und Redox-
potential an tierischem und menschlichem Gewebe

DU BOIS-REYMOND (1859) hatte als erster gezeigt, daß die von BERZELIUS (1807) entdeckte und von v. LIEBIG bestätigte Säuerung des Muskels nur im toten Gewebe auftritt. GRÄFF und RAPPOPORT (1937) berichten in den "Ergebnissen der allgemeinen Pathologie und Pathologischen Anatomie des Menschen und der Tiere" über die Bestimmung der Gewebsreaktion mit Indikatoren. GRÄFF hatte in zahlreichen und systematischen Untersuchungen bei Tier und Mensch diese postmortale Säuerung und ihren Ablauf untersucht. Der Beginn der Säuerung des Muskels ist etwa 1/2 Stunde nach der Tötung beim Tier nachweisbar und nimmt vom Ausgangswert (pH 7,2 - 7,4) im Laufe von 24 Stunden langsam und stetig bis etwa pH 6,0 ab; die anderen Gewebe folgen nach. Auch OGAWA stellte eine Säuerung nach dem Tode fest. TANGO wies ebenfalls auf die schnell eintretende Säuerung des Muskels hin, er stellte fest, daß die übrigen Organe nur langsam und allmählich säuerten. Auch an menschlichen Leichen wurde

von GRÄFF die postmortale Säuerung gefunden. Es war aber wegen der großen Streuung der Versuchswerte eine Voraussage über die Richtung der pH-Verschiebung und über das Maß der Säuerung nicht möglich. In einzelnen Fällen konnte die Säuerung fehlen, für viele Stunden ausbleiben oder nach Stunden wieder rückgängig werden. Diese unterschiedliche Richtung der Änderung des pH war in manchen Fällen einheitlich für alle Organe, in anderen Fällen aber völlig uneinheitlich.

GRÄFF und RAPPOPORT stellten auch die Ergebnisse elektrometrischer Messungen der Wasserstoffionenkonzentration dar und berichteten, daß aufgrund von solchen Messungen erstmals MICHAELIS und KRAMSZTYK (1914) auf die postmortale Säuerung hinwiesen. Über gleichartige Ergebnisse aufgrund von elektrometrischen Messungen haben u.a. PECHSTEIN, FURUSAWA und KERRIDGE und WACKER berichtet.

Die bisher dargestellten Versuche bezogen sich auf Zeiten von etwa bis zu zwei Stunden nach dem Tode.

LORKE (1953) stellte bei pH-Messungen an der Oberfläche und in der Tiefe tierischer Organe fest, daß in Gewebeprei ein deutlicher Unterschied zwischen Oberfläche und Tiefe besteht und nahm an, daß dies wohl durch die Abhängigkeit des pH vom Luftsauerstoff und damit vom Redoxpotential bedingt sei. LORKE fand, daß anfänglich ein steiler Abfall mit folgendem tiefen pH-Minimum nach dem Tod zu verzeichnen sei, an den sich ein weniger steiler pH-Anstieg des pH anschloss mit sehr langsamer Zunahme bis pH 7. In einer weiteren Arbeit unterscheidet LORKE für den pH-Verlauf an der Oberfläche von

Organen einen dreiphasigen Ablauf. In der ersten Phase, dem steilen Abfall kurz nach dem Tod, dauert die Zell-tätigkeit über den Tod des Organismus hinaus an; Milchsäure- und Phosphorsäurebildung entsprechen der Glykolyse und führen zu den pH-Veränderungen. Bakterielle Einwirkungen haben in diesem Abschnitt der pH-Kurve noch keine Bedeutung. In seiner zweiten Phase, die durch ansteigende pH-Werte gekennzeichnet ist, kommt es durch körpereigene und bakterielle Fermente zu Entstehung von Aminen und Ammoniak und damit zur Kompensation der Säure und zur alkalischen Reaktion. In der dritten Phase, dem langsamen Absinken des pH, herrscht ein kontinuierlicher und langsam abnehmender Eiweißabbau vor.

G. SCHMIDT weist daraufhin, daß beim Giftnachweis in der Leiche die autolytische Phase mit kurzdauernder Säuerung zu beachten ist, da in der Fäulnisphase eine Wochen anhaltende Alkalisierung im allgemeinen bis zu pH-Werten < 10 folgt.

Ausführliche Untersuchungen über das Redoxpotential in totem Gewebe wurden zuerst von O. SCHMIDT (1943) durchgeführt. Er hat durch Injektion von Redoxindikatorlösungen wichtige Anhaltspunkte über die Höhe und die Veränderung des Redoxpotentials nach dem Tode erhalten. Bei seinen Messungen geht er von der Annahme aus, daß die Wasserstoffionenkonzentration in den untersuchten Geweben bei pH 7 gelegen sei. In folgender Tabelle sind die Normalpotentiale der von O. SCHMIDT benutzten Farbstoffindikatoren angegeben:

F a r b s t o f f	Normal- potential (E_0) bei pH 7 in mV
Bindschedlers Grün	+ 224
2,6-Dichlorphenolindophenol	+ 217
Methylengrün	+ 120
Toluylenblauschlorid	+ 115
Kresylblauschlorid	+ 47
Gallocyanin	+ 21
Thionin	+ 18
Methylenblauschlorid	+ 11
Thioninblau G.O.	- 66
Toluidinblau	- 15
Neumethylenblau N.S.S.	- 38
Indigotetrasulfonat	- 46
Azur I	- 60
Indigotrisulfonat	- 81
Indigodisulfonat	- 125
Gallophenin	- 142
Kresylviolettchlorid	- 166
Brillantalizarinblau	- 275
Neutralrotjodid	- 300
Phenosafranin	- 525

Tabelle der Farbstoffindikatoren, die O. SCHMIDT zur Bestimmung des Redoxpotentials verwendete. (nach C. SCHMIDT).

Kurz nach dem Tod durch entbluten wurde: Kaninchen je 300 ml einer 0,001 molaren Redoxindikatorlösung in das Gefäßsystem injiziert und die Farbveränderungen verfolgt. Auf der Schnittfläche der Bauchorgane war nach 10 Minuten Dichlorphenolindiphenol entfärbt, entsprechend einem Potential negativer als + 188 mV. Bei Verwendung von Azur I - Farbstoff waren die inneren Organe einschließlich der Lunge nach 4 Stunden völlig entfärbt (Potential negativer als - 89 mV). Brilliantalizarinblau wurde erst nach Auftreten starker Fäulnis- und Zersetzungserscheinungen am 4. Tage nach dem Tod entfärbt (Potential negativer als - 304 mV).

In einem weiteren Versuch hatte O. SCHMIDT einem lebenden Kaninchen 20 ccm einer 0,02 molaren Gallocyaninlösung i.v. injiziert; erst 24 Stunden nach dem Tod, der 15 min nach der Injektion durch Narkose erfolgte, waren die inneren Organe entfärbt (Potential negativer als - 171 mV), lediglich Nierenpyramiden, Harnleiter und Blase waren noch etwas bläulich.

An oberflächlichen Schleimhäuten, die mit Luftsauerstoff ständig in Berührung kamen, sank bei diesen Versuchen das Potential nicht unter + 206 mV. O. SCHMIDT wies aufgrund dieser Versuche darauf hin, daß die Reduktionsgeschwindigkeit der einzelnen inneren Organe annähernd gleich sei.

Auch an menschlichen Leichen hat O. SCHMIDT durch subcutane, intramuskuläre und intravasale Farbstoffinjektionen Potentialbestimmungen durchgeführt.

Nach Injektion von je 4 ml einer 0,005 molaren Lösung von Dichlorphenolindophenol, Methylengrün, Methylenblau, Azur I, Indigotrisulfonat und Brilliantalizarinblau in die Oberschenkelaußenseite eines Erhängten 15 min nach dem Tod ergab sich, daß das Dichlorphenolindophenol nach 4 Stunden farblos geworden war (Potential unter + 188 mV); Methylengrün war zum selben Zeitpunkt im Zentrum der Injektion noch deutlich gefärbt; Methylenblau und Azur I waren lediglich am Rande der injizierten Bezirke etwas abgeblasst. Nach 15 Stunden waren alle Farbstoffe mit Ausnahme des Brilliantalizarinblaus völlig entfärbt, und zwar in Unterhautgewebe, Muskulatur, Fascien und Periost. Das Potential lag demnach 15 Stunden nach dem Tod zwischen - 110 mV und - 304 mV. Bei Injektion eines Farbstoffgemisches (Methylengrün, Methylenblau und Neutralrotjodid) erschien die Injektionsstelle nach 15 Stunden nur mehr rot gefärbt.

Intravaskuläre Farbstoffinjektionen ergaben besonders eindeutige Befunde. So beobachtete O. SCHMIDT an der Leiche eines vor 12 Stunden verstorbenen Neugeborenen bei Injektion von Farbstofflösungen (Dichlorphenolindophenol, Methylengrün, Methylenblau) in die Schenkelarterie nach 2 Stunden eine Entfärbung (Potential unter - 18 mV). Bei einer hochgradig faulen Wasserleiche wurde Methylenblau innerhalb einer Stunde farblos. Azur I wurde im Gehirn eines Neugeborenen innerhalb von 3 Tagen reduziert (Potential unter - 89 mV). Indigotrisulfonat, das einem Erhängten 36 Stunden nach dem Tod in eine Schenkelarterie injiziert worden war, war 12 Stunden später völlig entfärbt.

(Potential unter - 110 mV), wobei noch keine merklichen Fäulniserscheinungen zu bemerken waren. Erst nach Auftreten deutlicher Erweichung und Gasfäulnis wurden Kresylviolettchlorid und Brilliantalizarinblau in der Leiche eines Neugeborenen am 4. Tag p.m. entfärbt (Potential unter - 304 mV). Phenosafranin entfärbte sich bei einem Neugeborenen erst eine Woche nach dem Tode (Potential unter - 554 mV) bei starker Erweichung und Gasbildung.

Bei homogenisiertem Gewebe reduzierten Niere, Milz, Gehirn, Skelett- und Herzmuskulatur Farbstofflösungen etwa gleich schnell. Am zweiten Tag wurde bei starker Fäulnisgasbildung Phenosafranin entfärbt (Potential unter - 554 mV).

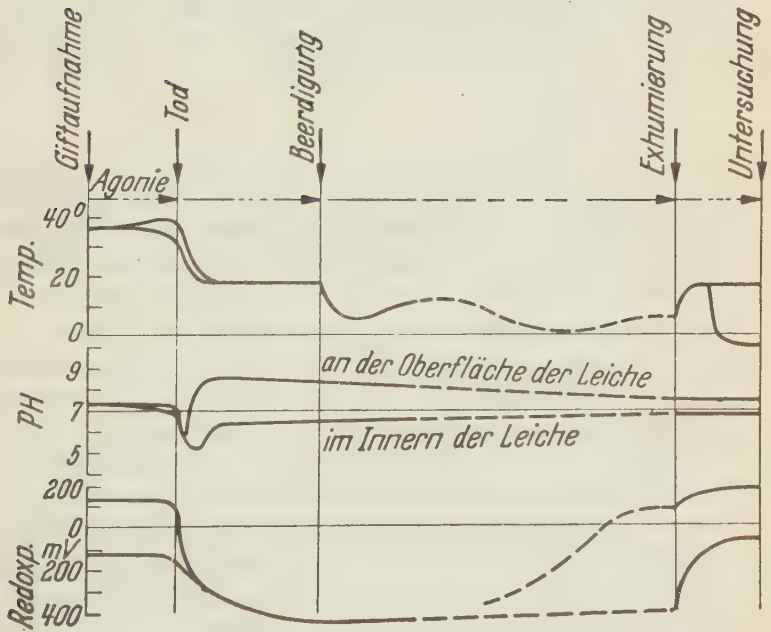
LORKE und SCHMIDT stellten bei einer ausführlichen Untersuchungsreihe über die Fäulnis und Verwesung mit Farbstoffindikatoren fest, daß im faulenden Gewebe, zu Beginn der Leichenzersetzung Redoxpotentiale herrschen können, die sich - 420 mV (Wasserstoffpotential) näherten. In späteren Stadien der Leichenzersetzung, im verwesenen Gewebe, wurden so negative Potentiale von ihnen nicht mehr gefunden. Bei der Untersuchung der Bildung von Mercaptanen und Thioäthern in Abhängigkeit von der Redoxlage durchströmten LORKE und SCHMIDT fein zerkleinerte Pferdeleber mit Sauerstoff, Stickstoff bzw. Wasserstoff. Sie nahmen an, daß im Sauerstoffstrom das Potential bei etwa + 800 mV, im Wasserstoffstrom bei etwa - 420 mV liegen würde; im Stickstoffstrom sei die Redoxlage durch das faulende Gewebe selbst

bestimmt. Das Potential sei hier nicht genau festzulegen, es liege aber sicherlich zwischen - 320 und - 420 mV. Die Bildung von schwefelhaltigen Verwesungsprodukten erfolgte bei ihren Untersuchungen nur bei negativen Redoxlagen um unter - 300 mV.

WEINIG hat in einer Arbeit über die Nachweisbarkeit von Giften in exhumierten Leichen das große Material zusammengetragen und auf die Wichtigkeit von Wasserstoffionenkonzentration und Redoxlage für die Umwandlung bzw. Nachweisbarkeit von Giften hingewiesen. In einer schematischen Darstellung (Abb. 1) hat WEINIG die Verhältnisse von Temperatur, pH und Redoxpotential wiedergegeben und dabei die Zeitspannen Giftaufnahme bis Tod, Tod bis Beerdigung, Beerdigung bis Exhumierung und Exhumierung bis Untersuchung unterschieden. Während sich das pH im Erdgrab dem Neutralpunkt nähert - an der Leichenoberfläche mehr im alkalischen und im Leicheninnern etwas im sauren - sind beim Redoxpotential nach anfänglich stark negativen Werten grosse Schwankungen zu erwarten, bei Austrocknen des Leichnams eine Abnahme der stark reduzierenden Eigenschaften. Es treten dann von der Oberfläche her auch positive Potentiale auf.

Abb. 1

Schematische Darstellung des Verlaufes
von Temperatur, pH und Redoxpotential
in der Leiche nach WEINIG



4. Meßverfahren

Wasserstoffionenkonzentration und Redoxpotential wurden elektrisch gemessen. Zu diesem Zweck werden mit dem zu messenden Material sogenannte Elektroden in Verbindung gebracht, und das elektrische Potential zwischen diesen Elektroden gemessen, das ein Maß für pH oder Redoxpotential darstellt.

4.1 Elektroden

Zur Potentialmessung werden sogenannte Halbzellen verwendet; es wird die Potentialdifferenz zwischen einer Bezugshalbzelle mit bekanntem Potential und der Meßhalbzelle gemessen; beide Elektroden haben mit der Meßlösung Verbindung.

Vereinbarungsgemäß, einem Vorschlag von NERNST folgend, wird der Bezugshalbzelle "Standard Wasserstoff" das Potential Null zugeschrieben. Diese Halbzelle ist jedoch für praktische Messungen unbequem, da sie leicht zu zerstören und schwierig zu handhaben ist. Man verwendet daher in der Praxis meist andere, robustere Bezugshalbzellen mit konstantem Eigenpotential und rechnet die gemessenen Potentialwerte auf den vereinbarten Nullpunkt um.

In vorliegender Arbeit wird als Bezugshalbzelle eine Kalomelhalbzelle verwendet. Kalomelhalbzellen gehören zu den gebräuchlichsten Bezugselektroden. Das Potential der gesättigten Kalomelelektrode beträgt gegenüber der

Standard-Wasserstoffelektrode + 0,241 Volt (25°C). Aus den gemessenen Spannungen, die mit der Kalomel-elektrode erhalten wurden, wird das gewünschte Potential (also die Potentialdifferenz gegen die Normalwasserstoffelektrode) errechnet, indem 0,241 Volt addiert werden. Beträgt z.B. eine gegen die Kalomel-elektrode gemessene Spannung - 0,100 Volt, so entspräche dies einer gegen die Normalwasserstoffelektrode gemessenen Spannung von $- 0,100 + 0,241 = 0,141$ Volt.

Zur pH-Messung wird eine Einstichglaselektrode verwendet (Philips Industrie Elektronik). Die Eichung der Glaselektrode erfolgte mit käuflichen pH-Puffern (Beckmann: pH 4,12, pH 7,00, pH 9,18, pH 12 ...)

Zur Messung des Redoxpotentials wurden Einstichplatin-elektroden hergestellt. Es wurden etwa 3 cm lange Platindrahtstücke mit einem Durchmesser von 1,5 mm an einen 1 mm Kupferdraht mit Weichlot angelötet und der Kupferdraht mit der Lötstelle in ein nach vorne etwas ausgezogenes dickwandiges Glasrohr mit Araldit eingegossen. Anschließend wurde der zugespitzte Platindraht mit Sandpapier mechanisch gereinigt und danach in konzentrierte Salpetersäure eingetaucht, und mit dest. Wasser nachgewaschen. Die Aufbewahrung der Elektroden erfolgte in dest. Wasser. Die Funktionstüchtigkeit der Elektroden wurde elektrisch kontrolliert, indem die Potentialdifferenz zwischen je 2 dieser Elektroden bei Eintauchen in ein Glas dest. Wasser gemessen wurde. Potentialdifferenzen bis zu 20 mV wurden zugelassen.

4.2 Spannungsmessung

Die Messung der Potentialdifferenz erfolgte mit einem Spannungsmesser. An diesen Spannungsmesser waren spezielle Anforderungen zu stellen, wie aus folgenden Überlegungen hervorgeht: bei Potentialmessungen wird durch die Messung grundsätzlich das Potential immer etwas verfälscht. Dieser Fehler ist umso größer, je mehr Strom für die Messung verwendet wird. Deshalb sind die Spannungsmeßgeräte möglichst hochohmig zu wählen.

Bei Messungen in Lösungen kann die Verfälschung durch die Messung weitgehend durch Umrühren ausgeglichen werden, da dann die Meßelektroden immer mit frischer Flüssigkeit in Berührung kommen und geringfügige Veränderungen dieser Flüssigkeit durch die Messung nicht in Erscheinung treten. Hier sind nicht so strenge Anforderungen an die Messung zu stellen.

Bei Messung in nichtflüssigen oder hochviskösen Medien besteht nicht die Möglichkeit des Umrührens, insbesondere nicht bei Messungen in Geweben. Hier muß von vornherein durch die Meßanordnung die Verfälschung durch die Messung möglichst klein gehalten werden. Damit erhebt sich hier ganz besonders die Forderung einer möglichst hochohmigen Messung.

Das für die Messung verwendete elektronische Gerät (1 Volt Vollausschlag) hatte einen Eingangswiderstand von mehr als 10^{12} Ohm.

4.3 Polarisation der Elektroden

Bei pH-Messungen mit Glaselektroden sind die Verfälschungen durch die Messung erfahrungsgemäß nicht so schwerwiegend, da die in biologischen Systemen vorliegenden Elektrolyte relativ stark abgepuffert sind. Anders liegen die Verhältnisse bei Messungen von Redoxpotentialen. Hier sind die Beschwerden der das Redoxpotential festlegenden Systeme oft außerordentlich gering. Beispielsweise wird im Blut das Redoxpotential überwiegend durch das System Ascorbinsäure/Dehydroascorbinsäure festgelegt.

Bei solch geringen Konzentrationen kommt es durch die Messung im Gewebe in den Bezirken, die die Meßelektroden umgeben, zu Veränderungen, die sich nicht durch Konvektion oder Diffusion ausgleichen können. Dies kann zur sogenannten Polarisation der Elektrode führen.

Die aus einer Polarisation sich ergebende Verfälschung der Messung kann zum Teil dadurch ausgeglichen werden, daß zeitweilig über eine Hilfselektrode der Meßelektrode ein veränderlicher Strom aufgeprägt wird, so daß es zu Elektronenübergängen an der Elektrode kommen muß. Anschließend wird die Einstellung des Potentials geprüft und verglichen, ob sich im Vergleich zu der Zeit vor dem erzwungenen Stromfluß eine Veränderung der Potentialdifferenz ergeben hat. Sind die Meßwerte unverändert, so kann angenommen werden, daß keine die Messung beeinflussende Polarisation bestanden hat.

Eine weitere Schwierigkeit stellt die "Vergiftung" der Elektroden dar, wie sie insbesondere durch schwefelhaltige Verbindungen entstehen kann. Durch die oben beschriebene Meßanordnung kann ebenfalls geprüft werden, ob eine Vergiftung der Elektroden vorliegt.

4.4 Meßanordnung

Zur Messung wurde eine elektronische Schaltung verwendet, die abwechselnd die Spannung einer Glaselektrode und einer Platinelektrode gegen eine Referenzelektrode (gesättigte Kalomelelektrode) hochohmig registriert.

Beim Messen des pH- bzw. Redoxpotentials wird jeweils von der Elektronik folgender Zyklus durchlaufen und registriert: Zuerst wird zwischen einer Platinhilfselektrode und der Meßelektrode (Glaselektrode bzw. Platinelektrode) eine kontinuierlich veränderliche Spannung von wenigen zehntel Volt angelegt, die positive und negative Werte durchläuft. Während dieser Zeit wird die Spannung zwischen Meßelektrode und Kalomelelektrode registriert; sie durchläuft dabei einen etwas sinusförmigen Verlauf. Anschließend wird die Platinhilfselektrode abgeschaltet und nur mehr die unbeeinflusste Spannung zwischen Meßelektrode und Kalomelelektrode aufgezeichnet.

Die Dauer dieses Zyklus ist wählbar, sie wurde in den Versuchen zwischen 2 und 3 Minuten festgelegt.

4.5 Technische Durchführung

4.5.1 Elektronik

Die Wirkungsweise der Schaltvorrichtungen ist aus dem schematisierten Blockschaltbild zu entnehmen (Abb. 2).

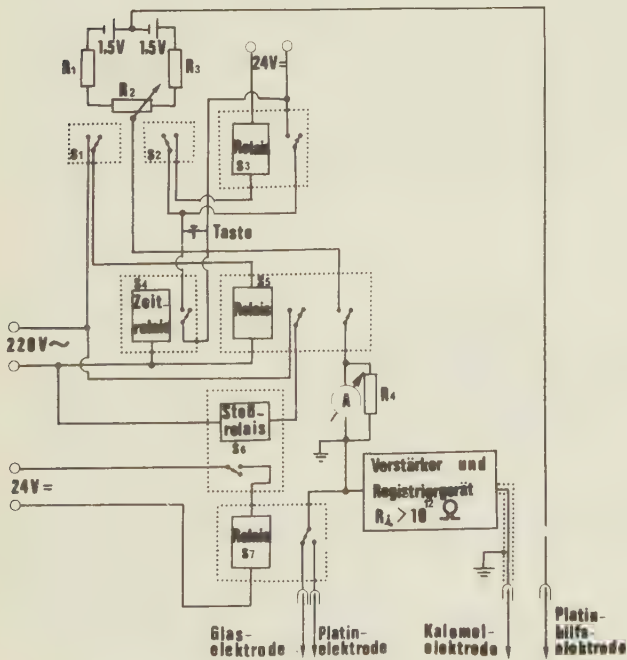


Abb. 2

Schematisches Blockschaltbild

Zur Versorgung der Elektronik werden 220 Volt Wechselspannung verwendet, aus denen für einzelne Relais über Transformator, Gleichrichterbrücke in Graetz-Schaltung und Glättungsglied 24 Volt Gleichspannung erzeugt werden. Die Gleichspannungseinheit ist im Blockschaltbild nicht eingezeichnet.

Die Stellung des Relais S 7 entscheidet darüber, ob das pH- oder Redoxpotential gemessen wird; je nach dem, ob das Relais angezogen oder abgefallen ist, befindet sich die Glaselektrode bzw. die Platinelektrode im Meßkreis. Um Schwierigkeiten bei der Potentialmessung durch schwankende Übergangswiderstände zu vermeiden, hat das Relais S 7 Goldkontakte. Gesteuert wird das Relais S 7 über das Stromstoßrelais S 6. Dieses Stromstoßrelais S 6 schaltet um, wenn der Strom für seine Magnetspule eingeschaltet wird, es schaltet dagegen nicht, wenn dieser Strom abgeschaltet wird. Der Strom durch die Spule des Relais S 6 wird über das Relais S 5 ein- und ausgeschaltet. Durch diese Anordnung wird erreicht, daß das Stromstoßrelais nur bei jedem 2. Schaltvorgang des Relais S 5 (nämlich nur beim Anziehen des Relais S 5, nicht beim Abfallen) umschaltet.

Ist das Relais S 5 abgefallen (Zustand wie im Blockschaltbild) so ist auch die Platinhilfselektrode abgeschaltet. In diesem Fall wird je nach Schaltstellung des Relais S 7 über den Verstärker und das Registriergerät die Spannung zwischen Kalomelelektrode und Platin- bzw. Glaselektrode gemessen.

Das Relais S 5 ist abgefallen, solange der Zeitschalter S 4 läuft. Während dieser Zeit wird die Spannung

zwischen MeBelektrode und Kalomelelektrode ohne Hilfs-
elektrode gemessen. Am Zeitschalter S 4 ist eine Zeit
wählbar zwischen 10 und 300 Sekunden einstellbar. Nach
dieser Zeit schaltet S 4 und es kommt zum Umschalten
der Relais S 5 und S 3. (Diese elektrische Verbindung
ist im Blockschaltbild nicht eingezeichnet). Über das
Relais S 5 wird neben Einschalten des Stromstoßrelais
S 6 auch die Hilfsspannung für die Platinhilfselektro-
den eingeschaltet. Die Hilfsspannung wird aus zwei
Monozellen mit je 1,5 Volt Spannung über einen Span-
nungsteiler entnommen. Der Abgriff der Hilfsspannung
erfolgt über ein lineares 10 k Ω Drehpotentiometer
(R 2), das durch einen Motor mit Getriebe in 60 Sekun-
den von einer Extremstellung zur anderen und wieder
zurück bewegt wird. Durch die Widerstände R 1 und R 3
wird der am Abgriff von R 2 durchlaufene Spannungsbe-
reich (einige Zehntel Volt) festgelegt.

Die Elektroden Potentiale werden über einen Impedanz-
wandler mit nachgeschaltetem Schreiber (Voltausschlag:
1 Volt) registriert, der Eingangswiderstand beträgt
mehr als 10^{12} Ohm. Damit ist die Stromentnahme an den
MeBelektroden gering, kleiner als 10^{-12} Amp.

Über das Ampermeter A kann der Strom gemessen werden,
der über die Hilfsplatinelektrode fließt. Der Strom
liegt in der Größenordnung von 10^{-6} Amp.

4.5.2 Elektrische Abschirmung

Die Messungen wurden im geerdeten Faraday-Käfig (Blecheimer) durchgeführt, alle Leitungen, die in den Faraday-Käfig eingeführt wurden, waren ebenfalls geerdet. Auch die Elektronik befand sich in einem Faraday-Käfig. Durch diese Anordnung konnte erreicht werden, daß die ursprünglich starke Anfälligkeit der Meßanordnung gegenüber eingestreuten Strömen völlig beseitigt wurde; auch das Einschalten starker Stromverbraucher beeinflusste die Messung nicht. Durch die Abschirmung wurde die Meßanordnung auch unempfindlich gegenüber kapazitiven Störungen. Bestehen blieb eine geringe Empfindlichkeit gegenüber Erschütterungen.

Um elektrische Stabilität des Meßkreises zu gewährleisten, wurden die Meßelektroden geerdet. Besondere Aufmerksamkeit mußte damit der Kalomelelektrode gewidmet werden. Es wurden deshalb auf der hochohmigen Seite der Meßanordnung abgeschirmte Teflonkabel verwendet.

4.5.3 Gasatmosphäre im Meßraum

Die Messungen wurden in einem sauerstofffreiem Raum durchgeführt.

Dazu wurde der als Meßraum verwendete Blecheimer mit einem großen Plastiksack umhüllt; über einen Schlauch und ein 5 mm Kupferrohr wurde speziell nachbehandelter, nachgereinigter Stickstoff in den Meßraum eingeblasen.

Der in 150 Atmosphären in cmb-Flaschen von der Firma Linde bezogene nachgereinigte Stickstoff wurde über ein übliches Reduzierventil auf etwa Atmosphärendruck herabgesetzt und durch ein senkrecht stehendes, etwa 1 m langes Glasrohr von 5 cm lichter Weite geleitet. In dem Glasrohr befand sich ein Sauerstoff absorbierendes Mittel. Um das Glasrohr war ein Widerstandsdraht gewickelt, der an 220 Volt Wechselstrom angeschlossen das Rohr auf etwa 80° erhitzte. Beim Durchströmen dieser Anordnung wurden die Sauerstoffreste aus dem Stickstoff völlig entfernt. Nach Passieren des Glasrohrs wurde der Stickstoff mit Wasserdampf gesättigt (Waschflasche). In der Waschflasche konnte an der Blasen Zahl die Flußgeschwindigkeit des Stickstoffs geschätzt werden. Von der Waschflasche wurde der Stickstoff in den Meßraum geleitet.

4.5.4 Vorbereitung des Gewebes

Zu den Messungen wurden im wesentlichen Gewebeteile verwendet, die während Sektionen entnommen und in 1 Liter Einmachgläsern im Kühlraum bei Temperaturen um + 4° Celsius aufbewahrt worden waren. Die Gläser waren zum großen Teil mit einem Glasdeckel ohne Gummiring verschlossen. Bei den untersuchten Gewebeteilen handelte es sich überwiegend um Leber.

Die Einmachgläser wurden mindestens etwa 12 Stunden vor der Messung aus dem Kühlraum genommen und in das Zimmer gebracht, in dem die Messung durchgeführt wurde. Im Meßraum selbst herrschte eine Temperatur um 20° C.

Zu Beginn der Messung wurde das zu untersuchende Gewebe im zugedeckten Einmachglas in den Bleicheimer gestellt, der als Untersuchungsraum diente. Anschließend wurde ein großer Plastiksack um den Meßraum angebracht und in den Meßraum sauerstofffreier Stickstoff eingeleitet. Mit einer Wasserstrahlpumpe, deren Sauganschluß in den Meßraum führte, konnte das Gasgemisch aus dem Meßraum abgesaugt werden. Nach etwa 15 Minuten Stickstofffluß wurde der Deckel des Einmachglases entfernt und in das Gewebe die 2 Platinelektroden und die Glaselektrode eingestochen, die Kalomelelektrode unter das Gewebe gelegt. Die gesamten Handgriffe wurden durch den Plastiksack hindurch in der Stickstoffatmosphäre ausgeführt. Schwierigkeiten in der Handhabung wegen starker Blähung des Plastiksackes konnte durch kurzfristiges Anschalten der Wasserstrahlpumpe beseitigt werden.

Anschließend wurde die Relaiselektronik eingeschaltet und die Messung durchgeführt.

Sollte während der Messung der Einfluss von Zutritt des Luftsauerstoffs geprüft werden, so wurde der Plastiksack in Überhandflächengröße aufgeschnitten, der Stickstoff abgeschaltet und die Wasserstrahlpumpe eingeschaltet. Dadurch war gewährleistet, daß sofort Luft an das Gewebe gelangen konnte. Sollte anschließend wieder unter sauerstofffreier Atmosphäre weitergearbeitet werden, so wurde das Loch im Plastiksack zusammengerafft und mit einem Bindfaden verschlossen. Die Dichtheit wurde an dem Aufblähen des Plastiksackes nach Einleiten von Stickstoff geprüft.

5. Meßergebnisse

Es wurden in Leberproben, die bis zu 20 Monate bei Kühlschranktemperatur gelagert waren, pH und Redoxpotential bestimmt.

Die Untersuchungen wurden zunächst in sauerstofffreier Stickstoffatmosphäre durchgeführt; das pH- und Redoxpotential wurde während etwa einer Stunde fünfmal gemessen, zwischen den Messungen wurden die Elektroden durch aufgezwungene Ströme geprüft. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3 dargestellt. Nach rechts ist die Zeitdauer der Lagerung der Gewebeproben aufgetragen; die festgestellten pH-Bereiche sind punktiert, die des Redoxpotentials ausgezogen eingetragen. Die Skala an der linken Seite gibt die Spannung gegen eine gesättigte Kalomelelektrode an, an den beiden rechten Skalen sind das Redoxpotential (ErH) und pH abzulesen.

Die Messungen haben ergeben, daß das pH bei längerer Lagerdauer über 10 Monaten im Bereich von etwa pH 7 - 9 liegt. Bei kürzerer Lagerdauer schwankt von Versuch zu Versuch die Wasserstoffionenkonzentration erheblich, zwischen pH 5 und pH 12.

Das Redoxpotential lag bei kürzerer Lagerdauer vorwiegend um - 200 mV, insgesamt zeigten die Werte eine erhebliche Streuung zwischen - 300 bis + 100 mV.

Aus der Abbildung 3 ist weiter ersichtlich, daß pH und Redoxpotential während der Messung gewissen

Änderungen unterworfen war; deshalb sind in vielen Fällen je Versuch nicht ein Meßpunkt sondern ein Meßintervall angegeben, das alle in einem Gewebestück festgestellten Meßwerte umfaßt. Während diese Veränderungen beim pH relativ gering sind, wurden beim Redoxpotential regelmäßig Veränderungen in der Größenordnung von 100 mV gefunden.

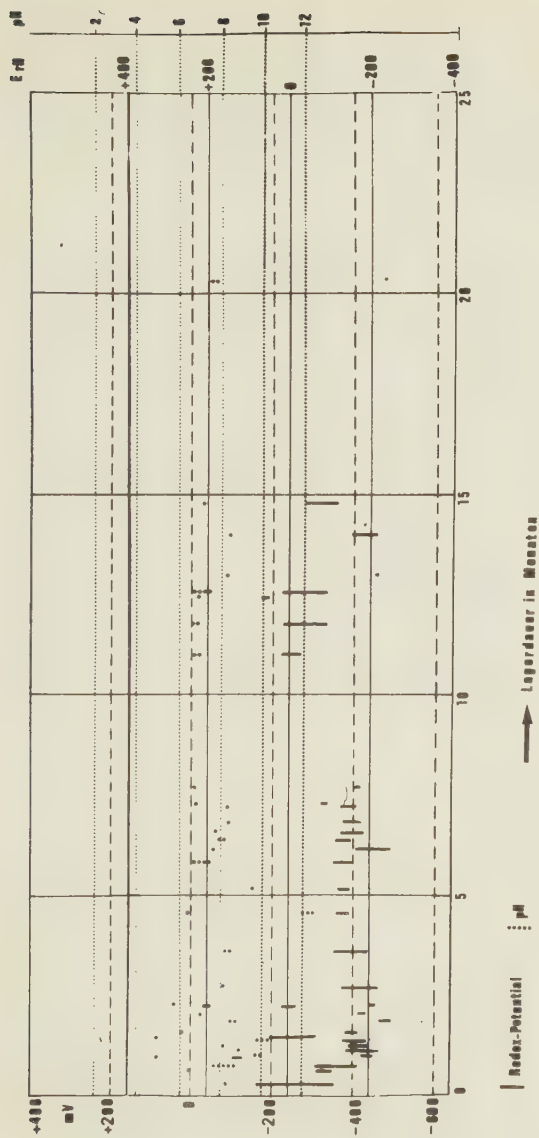


Abb. 2 pH und Redoxpotential in gelagerten Leberproben, gemessen in Stickstoffatmosphäre

Nach Abschluß der Messungen in Stickstoffatmosphäre wurde die Untersuchung in Luft weitergeführt. Der Zutritt von Luftsauerstoff führte zu uneinheitlichen Veränderungen von pH und Redoxpotential; die gemessenen Potentialbereiche in Stickstoff und Luftatmosphäre sind in Abbildung 4 dargestellt.

Der Einfluß einer pH-Änderung auf das Redoxpotential wurde in einer weiteren Versuchsreihe geprüft. Da eine gleichmäßige, experimentell erzeugte pH-Änderung in einem Gewebeblock nicht verifizierbar ist, wurde ein Stück Leber homogenisiert, mit wenig Wasser verdünnt und der Gewebebrei in ein Glasgefäß mit einem Magnet-rührer gefüllt. In das Gefäß tauchten die pH- und Redox-Elektroden ein, die Messanordnung befand sich in Stickstoffatmosphäre. Nach Bestimmung von pH und Redoxpotential wurden bei einem Teil der Versuche verschiedene Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Ameisensäure) schrittweise zugesetzt, bei einem anderen Teil Lauge (Natronlauge, Kalilauge) und jeweils pH- und Redoxlage bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 5 aufgezeichnet.

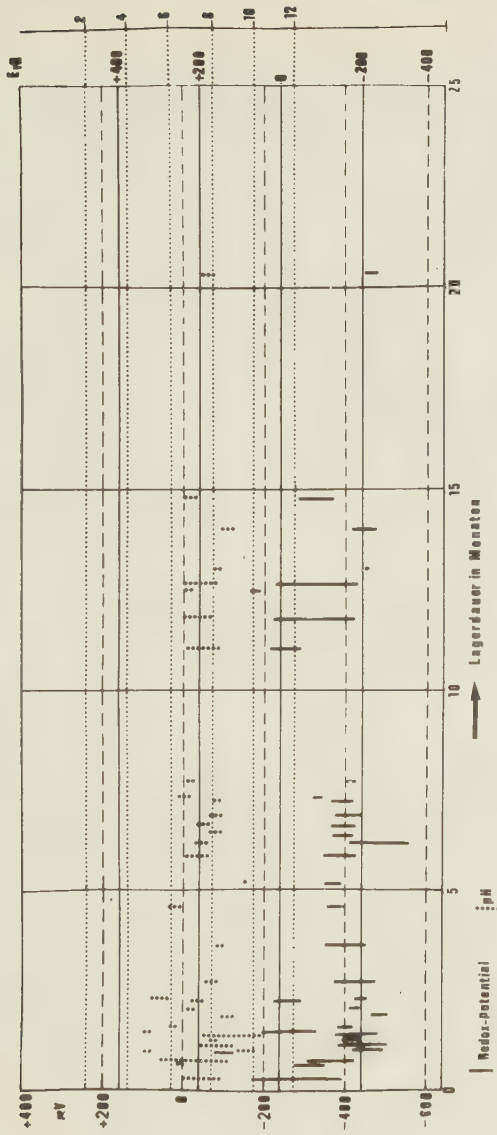
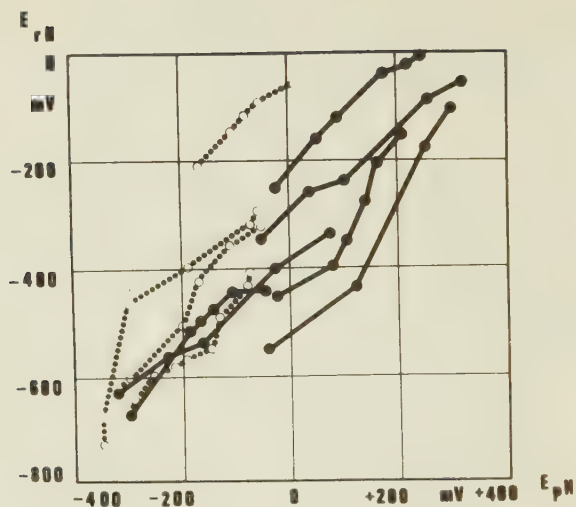


Abb. 4: pH und Redoxpotential in gelagerten Leberproben, gemessen in Stickstoffatmosphäre und bei Zutritt von Luft



Spannung einer Glaselektrode gegen eine
gesättigte Kalomelelektrode

Abb. 5 Abhängigkeit des Redoxpotentials (Ordinate)
von der Wasserstoffionenkonzentration,
geprüft an Leberhomogenisat. Die ausgezogen-
en Linien entsprechen Versuchen mit Zusatz
von Säuren, die punktierten Linien Versuchen
mit Laugenzusatz.

6. Diskussion =====

Für toxikologische Untersuchungen kann es von Bedeutung sein, welchen Bedingungen eine Leiche oder Leichenteile nach dem Tode ausgesetzt waren. WEINIG grenzt zeitliche Phasen zwischen Giftaufnahme, Tod, Organentnahme und Untersuchung ab, in denen sich Veränderungen der Organe und damit der Gifte vollziehen können.

Bei Untersuchung von Leichenteilen sind neben Kenntnis von äußeren Einflüssen, wie Temperatur, Bakterienbesiedlung etc. die Wasserstoffionenkonzentration und die Redoxlage im Gewebe von Bedeutung. Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, die beiden Größen und deren Veränderungen genauer zu bestimmen.

Wasserstoffionenkonzentration und Redoxpotential werden während des Lebens durch biologische Regelmechanismen konstant gehalten; sie verändern sich nach dem Tod. In zahlreichen Versuchen (u.a. GRAFF und RAPPOPORT, LORKE) wurde festgestellt, daß nach dem Tod eine Säuerung des Gewebes zu finden ist, die besonders ausgeprägt in der Muskulatur auftritt; anschließend steigen die pH-Werte langsam wieder an und bewegen sich schließlich um pH 7.

Über die Veränderungen des Redoxpotentials an der Leiche liegen ausführliche Untersuchungen von O. SCHMIDT vor, der durch Injektion von Redoxindikatorfarblösungen in Tierversuchen und an der menschlichen Leiche festgestellt hat, daß das Gewebe im Verlauf

weniger Tage mit Einsetzen starker Fäulnis stark reduzierende Eigenschaften mit Redoxpotentialen bis unter - 550 mV erhält. Auch im homogenisierten Gewebe konnte O. SCHMIDT solch niedrige Redoxpotentiale finden.

Über die Bestimmung von pH und Redoxpotential in länger gelagerten Gewebeproben liegen systematische Untersuchungen bisher noch nicht vor. Außerdem wurden solche Untersuchungen unseres Wissens noch nicht mit Elektroden und elektronischer Registrierung durchgeführt. Dies dürfte auf die erheblichen Schwierigkeiten solcher Messungen wegen der Gefahr der Polarisation bzw. Vergiftung der Elektroden bei Bestimmung des Redoxpotentials zurückzuführen sein. Durch Verwendung von Verstärkern mit hochohmigem Eingang und Überprüfung der Elektrodenpolarisation durch aufgeprägte Ströme konnten bei unseren Messungen reproduzierbare Ergebnisse erhalten werden. Die Wasserstoffionenkonzentration wurde mit Glas-Einstichelektroden bestimmt, das Redoxpotential mit Platin-Elektroden.

Für die Bestimmung der Redoxlage ist die Kenntnis des pH Grundvoraussetzung. Die Abhängigkeit von pH und Redoxpotential konnte an Leberhomogenisaten durch Zusatz von Säuren und Laugen geprüft werden. Bei großer Streuung der Werte ergab sich eine gleichsinnige und etwa gleichgroße Veränderung des Redoxpotentials und des Potentials der Glaselektrode. Eine solche Abhängigkeit findet sich bei vielen Redoxübergängen (z.B. H_2/H^+ ; Chinon-Hydrochinon; OH^-/O_2) und ist typisch für Zwei-Elektronenübergänge.

Die Messungen an den gelagerten Leberproben wurden unter Sauerstoffausschluß durchgeführt. Die pH-Werte von Leberproben in nichtvollständig verschlossenen, bei + 4° C gelagerten Glasgefäßen streuten bei einer Lagerungsdauer bis zu etwa 5 Monaten erheblich (pH 5 bis 12), bei längerer Lagerungsdauer bis 20 Monaten lag die Wasserstoffionenkonzentration in der Nähe des Neutralpunkts.

Das Redox-Potential lag auch bei langer Lagerung im reduzierenden Bereich, die Streuung der Werte war erheblich (- 300 mV bis + 100 mV).

Bei Zutritt von Luft kam es zu unterschiedlichen Veränderungen von pH und Redoxpotential um Beträge bis über 100 mV. Nach Ausschluß des Luftsauerstoffs gingen diese Veränderungen zum Teil wieder zurück. Systematische Veränderungen des Potentials konnten bei den Versuchen mit Sauerstoffzutritt nicht gefunden werden.

Die negativen Redoxpotentiale lagen im Bereich des Redoxübergangs S/S^{2-} und können von Redoxvorgängen in schwefelhaltigen Verbindungen stammen.

7. Zusammenfassung

Es wurden Messungen der Wasserstoffionenkonzentration und des Redoxpotentials an Lebergewebe durchgeführt, das bis zu 20 Monaten bei Kühlschranktemperatur in unvollständig verschlossenen Glasgefäßen aufbewahrt wurde. Für die Messungen wurde ein hochohmiges elektronisches Meßgerät mit Registriervorrichtung verwendet, als Elektroden dienten Glaselektroden, Platinelektroden und Kalomelelektroden. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Bei Lagerungsdauer bis zu 5 Monaten und Messung unter Sauerstoffausschluß streuten die pH-Werte zwischen pH 5 - 12.
2. Bei längerer Lagerungsdauer und Messung unter Sauerstoffabschluß lagen die pH-Werte um den Neutralpunkt.
3. Das Redoxpotential lag zwischen - 300 mV und + 100 mV.
4. Sauerstoffzutritt kann pH- und Redoxpotential erheblich verändern.
5. Redoxpotential und pH im Lebergewebe hängen voneinander ab; die Abhängigkeit entspricht Zwei-Elektronenübergängen.

8. Literaturverzeichnis
=====

BERNDT, D.

pH-Messung.

in: Handbuch der Lebensmittelchemie,

Bd. II/1, Seite 206 ff

Analytik der Lebensmittel; physikalische und
physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden
Hrsg. L.Acker, K.-G.Bergner, W.Diemair, W.Hei-
mann, F.Kiermeier, J.Schormüller, S.W.Souci
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1965

BERZELIUS

Lehrbuch der Chemie. 4. Aufl. Bd. 9

zit.nach Gräff und Rappoport

Dresden-Leipzig 1840

CLARK, W.M. and B. COHEN

Studies on Oxidation-Reduction II.

An Analysis of the Theoretical Relation
between Reduction Potentials and pH.

U.S. Publ. Health Reports 38, 666 (1923)

DU BOIS-REYMOND, E.

Gesammelte Abhandlungen zur allgemeinen

Muskel- und Nervenphysik. Bd. 2

Leipzig 1877

FURASAWA, W. and P.M.T. KERRIDGE

The hydrogen ion concentration of
the muscle of the cat.

J. Physiol. 63, 33 (1927)

GRÄFF, S.

Ein Verfahren zur Bestimmung der Wasserstoff-
ionenkonzentration im Gewebe mit Indikatoren.
Beitr. path. Anat. 72, 603 (1924)

GRÄFF, S.

Ein Verfahren zur Bestimmung der Wasserstoff-
ionenkonzentration im Gewebe und seine
Anwendung.

Trans jap. path. Soc. 14, 1 (1924)

GRÄFF, S. und A.E. RAPFCPORT

Methoden und Ergebnisse der Bestimmung
der Wasserstoffionenkonzentration des
tierischen Gewebes.

in: Ergebnisse der Allgemeinen Pathologie
und pathologischen Anatomie des Menschen
und der Tiere. Bd. 33, Seite 181 ff

Hrsg. W. Hueck und W. Frei

Bergmann, München 1937

HEIMANN, W. und K. WISSER

Das Redox-Potential.

in: Handbuch der Lebensmittelchemie
Bd. II/1, Seite 241 ff

Analytik der Lebensmittel; physikalische und
physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden

Hrsg. L.Acker, K.-G.Bergner, W.Diemair, W.Hei-
mann, F. Kiermeier, J.Schormüller, S.W. Souci
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1965

LIEBIG, v.

zit. nach Gräff und Rappoport

LORKE, D.

Die postmortale Wasserstoffionenkonzentration an der Oberfläche tierischer Organe.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 42, 167 (1953)

LORKE, D.

Postmortale pH-Messungen an der Oberfläche und in der Tiefe tierischer Organe.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 42, 173 (1953)

LORKE, D. und O. SCHMIDT

Beitrag zum postmortalen Abbau des Schwefels in Abhängigkeit von der Redoxlage. Die Bildung von Mercaptanen und Thioäthern.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 42, 164 (1953)

MICHAELIS, L. und K. KRAISZTYK

Die Wasserstoffionenkonzentration der Gewebssäfte.
Biochem. Z. 246, 285 (1932)

OGAWA, J.

Studien über das pH im Gewebe.
II. Verhalten der Wasserstoffionenkonzentration im Gewebe bei der experimentellen Acidosis und Alkalosis.
Jap. J. med. Sci. Trans. Int. Med. 2, 25 (1930)

PECHSTEIN, H.

Die Reaktion des ruhenden und arbeitenden Froschmuskels.

Biochem. Z. 68, 140 (1915)

SCHMIDT, O.

Potentiometrische Untersuchungen über die Reduktionsvorgänge in der Leiche und in Leichenorganen.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 37, 20 (1943)

SCHMIDT, G.

Postmortale Veränderungen von Arzneistoffen und Giften in Organen und Körperflüssigkeiten einschließlich Neubildung von Störsubstanzen.

in: Gadamers Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittlung der Gifte, Bd. I, 1. Hälfte, Seite 189 ff
Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen 1969
Hrsg. F.R. Preuß

TANGO, M.

Untersuchungen über die Wasserstoffionenkonzentration im Gewebe. I

Mitt.Trans.jap.path.Soc. 17, 122 (1927)

TANGO, M.

Untersuchungen über die Wasserstoffionenkonzentration im Gewebe. II

Mitt.Trans.jap.path.soc. 19, 138 (1929)

WACKER, L.

Vergleichende Untersuchungen über die saure Totenstarre des glykogenhaltigen und die alkalische oder Erschöpfungstotenstarre des glykogenarmen Muskels.

Biochem. Z. 184, 192 (1927)

WEINIG, E.

Die Nachweisbarkeit von Giften in exhumierten Leichen.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 47, 397 (1958)

WEINIG, E.

Allgemeine gerichtliche Vergiftungslehre.

in: Lehrbuch der gerichtlichen Medizin,

Seite 395 ff

Hrsg. A. Ponsold

Thieme, Stuttgart 1967

WEINIG, E.

Probleme der forensischen Toxikologie.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 56, 125 (1965)

Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung meinen herzlichen Dank sagen.

Herrn Dr. Dr. P. Zink danke ich für die wissenschaftlichen Anregungen und die ständige Hilfe und Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Name: Abdulatif Ismail
Geboren: 23. 2. 1941
in: Deir-El-Zor / Syrien
Staatsangehörigkeit: Syrer
Name der Eltern: Mechaniker Jassin Ismail
und Najia Ismail

Schulbildung: 5 Jahre Volksschule in Deir-El-Zor
4 Jahre Mittelschule in Deir-El-Zor
3 Jahre Oberrealschule in Deir-El-Zor

Studiengang: Universität Erlangen-Nürnberg
Studienkolleg SS 1962 bis WS 1962/63
Medizin SS 1963 bis SS 1968

Prüfungen: Studienkolleg-
Abschlußprüfung 8. 4. 1963
Vorphysikum 5. 5. 1964
Physikum 6. 11. 1965
Staatsexamen 31. 1. 1969

Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent im
St. Barbara-Krankenhaus in Schwandorf.



Buchdruckerei Ludwig Müller Erlangen Fahrstraße 5